

Manual de Instrucciones del producto

“Fibrinogen Assay Set y sus componentes”

Nota: los componentes del producto Fibrinogen Assay Set se comercializan desde la firma de origen, también en presentaciones individuales como productos terminados. Este prospecto interno pertenece al Producto Fibrinogen Assay Set y a sus componentes como productos terminados individuales.

Pacific Hemostasis

Fibrinogen Assay Set (100 o 300 determinaciones)
o uno de los siguientes componentes :
Fibrinogen Reference Plasma
Bovine Thrombin (200 ó 500 NIH por vial)
Imidazol Buffered Saline

I. Uso previsto
Los productos Pacific Hemostasis® Fibrinogen Assay Set, Fibrinogen Referente Plasma, Imidazole Buffered Saline (IBS) y Bovine Thrombin 200 y 500 se utilizan en la determinación cuantitativa de fibrinógeno en muestras de plasma.
II. Resumen y fundamento
El ensayo de Fibrinógeno por tiempo de coagulación de trombina se basa en el método originalmente descripto por Clauss. En presencia de altas concentraciones de trombina, el tiempo requerido para la formación del coágulo en el plasma diluído es inversamente proporcional a la concentración de fibrinógeno.
III. Reactivo
Para uso diagnóstico *in vitro*.
Almacenar todos los reactivos sin abrir entre 2-8ºC.
Composición:
Bovine Thrombin 200 ó 500 (aproximadamente 100 unidades NIH/ml). Trombina bovina tamponada y liofilizada. Reconstituir con agua destilada según indica la etiqueta del frasco. Agitar suavemente hasta su completa disolución. El material reconstituído es estable durante 7 días a una temperatura entre 2 y 8 ºC o puede ser congelado antes de las 4 horas para usarlo dentro de los 30 días. Descongelar rápidamente a 37 ºC. No volver a congelar.
Fibrinogen Reference plasma. Plasma humano recogido con citrato de sodio como anticoagulante. Se añaden < 1 % de estabilizantes y soluciones tampón antes de la liofilización. Reconstituir con 1 ml de agua destilada. Agitar suavemente hasta su completa disolución. El material reconstuido es estable durante 8 horas a 2 - 8 ºC .
Imidazole Buffered Saline (IBS): solución tampón de Imidazol en solución salina, pH 7.4 +/- 0.2 con azida sódica al 0.1% como conservante.
Precaución: Todas las unidades de material usadas en la preparación del Fibrinogen Referente Plasma han sido testeadas por un método aprobado por FDA y encontradas no reactivas para HBsAg y negativas para anticuerpos HIV y HCV. Sin embargo, ningún test puede ofrecer completa seguridad respecto de que los productos derivados de sangre

humana no transmitirán hepatitis, SIDA u otras enfermedades infecciosas. Este producto, a igual que todos los materiales de origen humano, debe ser manipulado como material biológico potencialmente infeccioso.
Advertencia: La IBS contiene azida sódica. En un medio ácido, la azida sódica produce ácido hidrazoico, un compuesto muy tóxico. Diluir con agua corriente antes de desechar, y luego aclarar con agua abundante. Se recomienda seguir estas precauciones a fin de evitar la acumulación de residuos en las tuberías de metal, que pueden generar condiciones explosivas.
La pérdida de vacío en los viales, valores erráticos, o variaciones de color en el producto pueden indicar deterioro. Sin embargo, una performance disminuida puede deberse a otros factores dentro del sistema de ensayo.

IV. Recogida de muestras

Para las pruebas de coagulación se recomienda utilizar como anticoagulante, citrato trisódico al 3.2 % (0.109M). Evitar la hemólisis y contaminación por fluídos tisulares. Las muestras que tienen volumen de llenado inferior al 90% del volumen esperado deben ser rechazadas. Centrifugar la sangre durante 15 minutos a 1500 x g. Testear dentro de las dos horas si las muestras son recogidas entre 22-24ºC. Para más detalles sobre la recolección y almacenamiento, ver el documento H21-A2 del NCCLS[2].

V. Procedimiento de la prueba

A. Material suministrado:

Pacific Hemostasis Fibrinogen Assay Set:

100 determinaciones:
A. Bovine Thrombin 200: 5 viales x 2 ml.
B. Fibrinogen Reference Plasma: 3 viales x 1 ml.
C. Imidazole Buffered Saline: 1 vial x 135 ml.

300 determinaciones:
A. Bovine Thrombin 500: 6 viales x 5 ml.
B. Fibrinogen Reference Plasma: 2 viales x 1 ml.
C. Imidazole Buffered Saline: 2 viales x 135 ml.

Nota: Los reactivos Bovine Thrombin 200, Bovine Trombin 500, Fibrinogen Reference Plasma e Imidazol Buffered Saline se proveen también separadamente como productos terminados.

B. Material necesario pero no suministrado:
Tubos de ensayo de plástico
Pipetas de precisión 0.1 y 0.2 ml.
Pipetas serológicas.
Controles normales y anormales tales como Pacific Hemostasis Level 1 Coagulation Control, Low Fibrinogen Control y High Fibrinogen Control Plasmas.
El equipo de reactivos para determinación de fibrinógeno y los componentes individuales son adecuados para usarlos con métodos manuales, mecánicos o fotoópticos para la detección de punto final de formación del coágulo. En el caso de instrumentos automáticos y semiautomáticos, seguir las instrucciones del fabricante. En métodos de prueba manuales y mecánicos:

A. Preparar un mínimo de cinco diluciones diferentes del Fibrinogen Reference Plasma reconstituído en IBS. Diluir el plasma al menos 1:3 para minimizar los factores interferentes.
B. Diluir el control de calidad y las muestras de pacientes a 1:10 en IBS.
C. Precalentar 0.2 ml de cada dilución a 37ºC durante 4-6 minutos.
D. Añadir 0.1 ml del reactivo de Bovine Thrombin a la dilución precalentada y cronometrar la formación del coágulo. No precalentar la trombina.
E. La frecuencia de la preparación de la curva de calibración viene parcialmente determinada por el método de detección de coágulos utilizado. Prepare siempre una nueva curva cada vez que cambie el lote de reactivo o el instrumento, o cuando los resultados de los controles no se encuentren dentro de los intervalos establecidos.

VI. Resultados

A. El plasma diluído 1:10 representa el 100 % del valor asignado. El factor de dilución indica la relación entre la dilución a 1:10 y la demás diluciones.
Sólo a modo de ejemplo:
Estándar = 304 mg/dl de fibrinógeno (cada laboratorio debe preparar curvas con sus propios reactivos e instrumentos)

Dilución	Factor de dilución	Fibrinógeno (mg/dl)	TC medio (segundos)
1:3.5	10/3.5=2.6	304 x2.6=790	5.8
1:5	10/5=2	304 x 2 =608	7.3
1:10	10/10=1	304 x 1 = 304	13.4
1:15	10/15=0.67	304 X 0.67=204	20.8
1:35	10/35=0.29	304 x 0.29= 88	49.2

B. Calcular la media de los tiempos de coagulación duplicados al 0.1 de segundo más próximo. Utilizar los cinco puntos del calibrador para crear una curva log-log que represente la concentración de fibrinógeno frente al tiempo de coagulación. Trazar la línea recta que mejor se ajuste a los cinco puntos. Examinar la curva y si es necesario, omitir los puntos no lineales. La curva final debe constar de tres puntos consecutivos como mínimo. La creación de la curva solo con los puntos más lineales producirá la mejor recuperación de las concentraciones de los controles y de la muestra del paciente.
C. Buscar el tiempo de coagulación del control de calidad y de las muestras de pacientes en la curva y leer el valor de fibrinógeno correspondiente. Si los tiempos de dilución a 1:10 se encuentran fuera de la curva lineal, preparar diluciones a 1:5 ó 1:20, según sea necesario. Si la muestra se diluye a 1:5, dividir el resultado de la curva estándar por 2, si la muestra se diluye 1:20 multiplicar el resultado por 2 para obtener el resultado final.

VII. Limitaciones

1. La sangre debe ser adicionada inmediatamente al anticoagulante citrato trisódico y mezclada suavemente. EDTA y heparina son anticoagulantes inapropiados.
2. La hemólisis puede causar activación del factor de coagulación e interferencia en el punto de detección.
3. Las muestras deberían contactar solo superficies no humedecibles.

4. La proporción sangre:anticoagulante es usualmente 9:1 y resulta en una concentración de 10.9 a 12.9 mmol/l. Esta concentración debe ser ajustada para pacientes con hematocrito por encima de 55 %. Ver NCCLS Document H21-A2[2].
5. El congelamiento y descongelamiento del plasma que contiene células residuales generará daño en la membrana celular que puede afectar los resultados.
6. Las reacciones inflamatorias agudas pueden elevar el facto I circulante (fibrinógeno).
7. Altas concentraciones de productos de degradación (FDP o D-Dimer) pueden prolongar los tiempos de coagulación, especialmente con niveles de fibrinógeno menores a 150 mg/dl[3].
8. En pacientes con anormalidades cualitativas de fibrinógeno, el ensayo puede indicar fibrinógeno disminuído. Los resultados de fibrinógeno cuantitativos pueden ser normales sobre la misma muestra si se testea por otros métodos [3,4].
9. La heparina no interfiere a niveles terapéuticos. Sin embargo, niveles de heparina muy altos pueden causar resultados de fibrinógeno bajos. La enzima Batroxobin puede ser sustituída por trombina en este ensayo si se sospecha interferencia de heparina.
10. Niveles de paraproteína altos, anticuerpos trombina, y drogas que activan el sistema fibrinolítico pueden interferir con los ensayos de fibrinógeno.
11. El Fibrinogen Assay Set y los componentes individuales están diseñados para funcionar a 37ºC. Asegurarse que los equipamientos para calentamiento funcionan correctamente.

VIII. Valores previstos

Los laboratorios deben establecer un intervalo de referencia normal para las determinaciones de fibrinógeno. Generalmente, el intervalo de referencia normal es de 150 a 350 mg/dl (de 1.5 a 3.5 g/l).

IX. Características de funcionamiento

A. Precisión

Se sometieron a prueba plasmas con una tasa de fibrinógeno baja, normal y alta en varios laboratorios utilizando reactivos de Pacific Hemostasis. Los resultados fueron comparados con los obtenidos utilizando reactivos de otros fabricantes en varios laboratorios:

Muestra	Pacific Hemostasis	N*	Todos los reactivos	N*
Baja	144 mg/dl	10	163 mg/dl	195
Normal	294 mg/dl	10	297 mg/dl	195
Alto	488 mg/dl	16	474 mg/dl	390

B. Exactitud

Se sometieron a prueba plasmas con fibrinógeno bajo, normal y alto durante múltiples días y utilizando reactivos de Pacific Hemostasis en un instrumento fotoóptico. En cada día de prueba se determinaron diez curvas estándar, obteniendo un total de 30. El porcentaje del coeficiente de variación fue de 5.9 % (bajo), 3.4% (normal) y 2.9 % (alto).

X. Bibliografía

1. Clauss, A. Acta Haemat 17:237-246, 1957.

2. NCCLS: Collection, transport, and processing of blood specimens for coagulation testing and performance of coagulation assays. 2nd edition. Approved guideline. NCCLS Document H21-A3, Wayne, PA, 1998.
3. NCCLS: Procedure for determining fibrinogen in plasma. Approved guideline. NCCLS Document H30-A2, Wayne, PA 2001.
4. Musgrave, KA, Bick, RL, et al. Editors: Hematology: Clinical and Laboratory Practice. Vol 2. Pp 120901315. Mosby. St. Louis, MO, 1993.
5-7 Los datos de estabilidad proceden de DHF.
8-10 Información procedente de un archivo de 510 (K).

INFORMACIÓN PARA PEDIDOS

Nº de ref.	Descripción	Contenido
100600	Fibrinogen Assay Set	100 det.
100605	Fibrinogen Assay Set	300 det.
100601	Thrombin 200 (100 NIH/ml)	10 x 2 ml
100606	Thrombin 500 (100 NIH/ml)	10 x 5 ml
100602	Fibrinogen Reference Plasma	10 x 1 ml
100604	Low Fibrinogen Control Plasma	10 x 1 ml
100607	High Fibrinogen Control Plasma	10 x 1 ml
100647	Imidazole Buffered saline	2 x 135 ml

GARANTÍA LIMITADA DE FISHER DIAGNOSTICS®

Fisher Diagnostics (FD) garantiza al comprador que sólo los productos de Fisher Diagnostics funcionarán tal y como se describe en sus etiquetas y documentación. El comprador debe determinar si los productos de Fisher Diagnostics son idóneos para sus aplicaciones específicas. La única obligación de Fisher Diagnostics será, a su elección, la sustitución de un producto defectuoso o que no cumpla con las especificaciones, o bien la devolución del precio de compra. FD RECHAZA CUALQUIER OTRA GARANTÍA, SEA EXPRESA O IMPLÍCITA, INCLUYENDO LAS GARANTÍAS DE COMERCIABILIDAD E IDONEIDAD PARA CUALQUIER PROPÓSITO DETERMINADO. Ni FD ni sus afiliados podrán ser considerados responsables, en ningún caso, por las pérdidas o daños incidentales o consecuentes.

Fisher Diagnostics®
Fisher Scientific Company L.L.C.
8365 Valley Pike
Middletown, VA 22645-0307, EE.UU.
1-(800)-528-0494 sólo en EE.UU.